

高效液相色谱法同时鉴定保健品中非法添加的四种降糖药成分

曾茂法,张学斌(浙江省台州市药品检验所,浙江 台州 318000)

摘要:目的 建立高效液相色谱法同时鉴定保健品中非法添加的四种降糖药成分。方法 色谱条件 1: Symmetry- C_{18} 柱,流动相为甲醇-水(含十二烷基硫酸钠 0.03%与三乙胺 0.1%,调节 pH 值至 3.5)(67:33),流速为 $1.0\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$; DAD 检测器,检测波长 234 nm; 色谱条件 2: Zorbax- C_8 柱,其余同色谱条件 1。利用提取的色谱与光谱鉴定。结果 格列本脲、盐酸苯乙双胍、盐酸二甲双胍、甲苯磺丁脲等四种成分得到分离并鉴定。结论 该方法简便可靠,可一次鉴定是否含上述四种成分。

关键词:高效液相色谱法;保健品;降糖药成分;鉴定

Identification of four components of diabetes medicine added illegally to health products by HPLC

ZENG Mao-fa, ZHANG Xue-bin (*Zhejiang Taizhou Institute for Drug Control, Taizhou 318000, China*)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a method for identification of four components of diabetes medicine added illegally to health products by HPLC. **METHODS** It was conducted with two chromatographic conditions. The condition 1: Symmetry-C₁₈ column was used with the mobile phase consisting of methanol water (including 0.03% sodium dodecyl sulfate and 0.1% triethylamine, the value of pH was adjusted to 3.5) (67:33), the flow rate was 1.0 mL·min⁻¹, the detector was DAD, the wavelength of detection was 234 nm. The condition 2: Zorbax-C₈ column was adopted and the other was the same to the condition 1. The identification was based on the extract chromatogram and spectrum. **RESULTS** Glibenciamidum, phenformini hydrochloridum, metformini hydrochloridum and tolbutamidum could be separated and identified. **CONCLUSION** This method is found to be simple, credible, and can identify whether the health products have these four components at the same time.

KEY WORDS: HPLC; health products; components of diabetes medicine; identification

格列本脲、盐酸苯乙双胍、盐酸二甲双胍、甲苯磺丁脲是常用的降糖药物,中国药典^[1]均有收载。近年来,我们在送检的保健品中多次检出上述药物成分,患者在不知情的情况下服用非法添加降糖药物的保健品容易导致低血糖,危害极大。采用常规逐一鉴定,费时耗材。我们经过多次试验,摸索出高效液相色谱法同时分离鉴定格列本脲、盐酸苯乙双胍、盐酸二甲双胍、甲苯磺丁脲的方法,现报告如下。

1 仪器与试剂

Waters Allians 高效液相色谱仪, 2996 二极管阵列检测器, Waters Empower 工作站。格列本脲、盐酸苯乙双胍、盐酸二甲双胍、甲苯磺丁脲等均为原料药(含量均在 99.3% 以上,红外光吸收图谱与对照图谱一致),甲醇为色谱纯,十二烷基硫酸钠、三乙胺、磷酸等为分析纯。样品二批(标示某生物科技有限公司生产,胶囊剂,批号:20041004,20041017)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

2.1.1 色谱条件 1 色谱柱: Symmetry-C₁₈ 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-水(含 3 mmol/L 的十二烷基硫酸钠与 0.1% 三乙胺,用磷酸调 pH 至 3.5) (67:33); 流速 1.0 mL·min⁻¹; DAD 检测器,检测波长 234 nm; 进样量 20 μL; 柱温 30℃。

2.1.2 色谱条件 2 色谱柱: Zorbax-C₈ 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 其余同条件 1。

2.2 样品、对照溶液的制备

取样品 1 粒内容物,研细,用 50% 甲醇溶液 60 mL 移至 100 mL 量瓶中,振摇使溶解,加 50% 甲醇溶液至刻度,摇匀,滤过,作为供试品溶液。另精密称取格列本脲、盐酸苯乙双胍、盐酸二甲双胍、甲苯磺丁脲适量,加 50% 甲醇溶液制成每 1 mL 含四种成分各 500 μg 的溶液,作为对照溶液。

2.3 测定结果

分别按色谱条件 1 与色谱条件 2,从 3D 图谱中提取光谱及色谱,在上述两种分离条件下,四种成分均得到完全分离;

样品中检出的两种组分与对照品格列本脲与盐酸苯乙双胍的液相色谱保留时间均一致,利用仪器峰纯度计算与光谱匹配检测功能,得到结果见表 1。从表 1 可见,样品中两种组分与对照品相应成分比较,在两种色谱条件下分离得到的色谱峰纯度角度、PDA 匹配角度均分别小于纯度阈值与匹配阈值,说明两峰成分为单一成分且光谱与对照品匹配,即样品中检出盐酸苯乙双胍与格列本脲。

表 1 峰纯度与光谱匹配结果

Tab 1 The purity of peak and the suitability with spectrum

色谱条件	组分名称	纯度角度	纯度阈值	匹配角度	匹配阈值
1	盐酸苯乙双胍	0.095	0.259	0.354	1.042
	盐酸格列本脲	0.040	0.262	0.079	1.027
2	盐酸苯乙双胍	0.081	0.275	0.404	1.049
	盐酸格列本脲	0.070	0.280	0.069	1.038

3 讨论

中药保健品成分复杂,而色谱保留时间和紫外光谱鉴别又有一定的局限性,故本实验用两个不同色谱条件进行分离鉴定,以提高鉴定的专属性。

本实验方法可同时分离鉴定上述四种降糖药物,可作为快速鉴定保健品中是否含有这些药物的方法。

这类样品处方成分不固定,定量的方法学验证没有共性,加上送检的目的是定性,因此笔者未作定量的方法学验证。

用外标法计算出的样品大致含量是否与该药物的治疗量相近,样品说明书或使用者的反应以及化学鉴别等可作为鉴定的参考。

参考文献

- [1] ChP(2000) Vol II (中国药典 2000 年版.二部) [S]. 2000: 700, 625, 539, 144.

收稿日期: 2005-06-21